

Aus der Klinik für Geburtshilfe und Gynäkologie
der Haustiere mit Ambulatorium
Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. M. Berchtold

Arbeit unter der Leitung von Dr. R. Müller

**TYPENSPEZIFISCHE AGGLUTININE
GEGEN STREPTOCOCCUS AGALACTIAE
IN BLUT – UND MILCHSEREN VON
LAKTIERENDEN KÜHEN**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Veterinär - medizinischen Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von
SUSANNE SCHEUERMEIER
von Zürich

Genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. M. Berchtold, Referent
PD Dr. R. L. von Fellenberg, Korreferent

Zürich 1980



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Klinik für Geburtshilfe und Gynäkologie
der Haustiere mit Ambulatorium
Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. M. Berchtold

Arbeit unter der Leitung von Dr. R. Müller

**TYPENSPEZIFISCHE AGGLUTININE
GEGEN STREPTOCOCCUS AGALACTIAE
IN BLUT – UND MILCHSEREN VON
LAKTIERENDEN KÜHEN**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Veterinär - medizinischen Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von
SUSANNE SCHEUERMEIER
von Zürich

Genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. M. Berchtold, Referent
PD Dr. R. L. von Fellenberg, Korreferent

Zürich 1980



Inhaltsverzeichnis

I	EINLEITUNG	1
II	LITERATUR	2
	A. Streptococcus agalactiae	2
	B. Zur Typisierung von Sc. agalactiae	2
	1. Polysaccharid-Typen	3
	2. Protein-Typen	3
	3. Häufigkeit der Typen	4
	C. Das Immunsystem der Rindermilchdrüse und seine Rolle bei der Infektionsabwehr	4
	D. Agglutinine	5
III	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	7
	A. Material	7
	B. Methodik	8
	1. Herstellung von Milchserum	8
	2. Herstellung der Antigen-Suspensionen	8
	3. Durchführung der Agglutination	9
	a) Blutserum	9
	b) Milchserum	9
	c) Beurteilung	10
	C. Resultate	11
	1. Blutserum	11
	a) Eutergesunde Tiere	11
	b) Exponierte Tiere	12
	c) Infizierte Tiere	13
	d) Vergleich der Titer gegen die verschiedenen Typen im einzelnen Serum	14
	e) Vergleich der drei Gruppen bezüglich der Typen R, X und II	14

2. Milchserum	17
a) Nicht infizierte Viertel	17
b) Infizierte Viertel	18
c) Vergleich der Titer gegen die verschiedenen Typen im einzelnen Serum	19
d) Vergleich von nicht infizierten und infizierten Vierteln	19
e) Einfluss einer Euterentzündung auf die Titerhöhe	22
f) Vergleich der Titerhöhe in Milch- und Blutserum	24
IV DISKUSSION	26
A. Agglutinine im Blutserum	26
B. Agglutinine im Milchserum	27
V ZUSAMMENFASSUNG	30
VI LITERATURVERZEICHNIS	31

I EINLEITUNG

Die Mastitis ist wirtschaftlich gesehen die verlustreichste Erkrankung der Milchkühe. Im Durchschnitt leiden 20-25 Prozent der Tiere an einer subklinischen Mastitis (20). Die enormen Ertragseinbussen sind vorwiegend dadurch bedingt, dass erkrankte Viertel im Mittel 20 Prozent weniger Milch geben als gesunde (12).

Die Mastitis gilt als infektiöse Faktorenkrankheit. Während das Erkrankungsrisiko durch Umweltfaktoren bestimmt wird, werden Konstitution und Kondition für das klinische Bild verantwortlich gemacht.

Für die Bekämpfung stehen bis heute prophylaktische Massnahmen der Melk- und Stallhygiene und die Chemotherapie im Vordergrund. Damit gelingt es, die Mastitishäufigkeit auf ein Mass zu reduzieren, das sowohl vom ökonomischen als auch vom lebensmittelhygienischen Standpunkt aus als akzeptabel angesehen wird. Die bisher erzielten Ergebnisse lassen trotzdem noch viele Wünsche offen. Es drängt sich deshalb auf, nach zusätzlichen Möglichkeiten für die Bekämpfung von Mastitiden zu suchen. Seit einigen Jahren wird vermehrt an der Einbeziehung der natürlichen Abwehrmechanismen der Milchdrüse in die Prophylaxe und Therapie von Euterentzündungen gearbeitet. Dieser Problemkreis weist noch viele ungeklärte Fragen auf. Als Mosaikstein für weiterführende Arbeiten wird im folgenden untersucht, ob im Blut- und Milchserum von laktierenden Kühen agglutinierende Antikörper gegen Gelbgalt-Streptokokken nachweisbar sind und wieweit Unterschiede bestehen zwischen eutergesunden und infizierten Kühen.

II LITERATUR

A. Streptococcus agalactiae

Sc. agalactiae wird aufgrund eines gruppenspezifischen Polysaccharides, der sogenannten C-Substanz, der Lancefield-Gruppe B zugeordnet. Er ist deren einziger Vertreter.

In der Humanmedizin sind B-Streptokokken im Urogenitale der Frau klinisch relevant. Eine Uebertragung der Keime auf das Neugeborene konnte nachgewiesen werden. Die verursachten Erkrankungen sind Abortusfälle und Puerperalfieber bei der Frau sowie Sepsis und Meningitis beim Säugling. (5)

In der Veterinärmedizin spielt Sc. agalactiae praktisch nur als Mastitis-Erreger eine Rolle. Hier besitzt er noch immer eine überragende Bedeutung. In mindestens 20 % der Kuhbestände stehen Tiere mit Gelbgalt-Infektionen. In einigen Regionen liegt dieser Anteil noch beträchtlich höher. (11).

In der Mastitis-Diagnostik und -Therapie wird Sc. agalactiae als einheitlicher Erreger angesehen. Mit immunologischen Methoden ist er jedoch weiter differenzierbar.

B. Zur Typisierung von Sc. agalactiae

Aufgrund von Polysaccharid- und Protein-Antigenen in der Zellwand werden heute üblicherweise sechs verschiedene Typen von Sc. agalactiae unterschieden (5,13,22).

1. Polysaccharid-Typen

Die typenspezifischen Polysaccharide sind hauptsächlich in der Zellwand, in geringem Masse aber auch in der Kapsel lokalisiert (5). Sie lassen sich mittels Präzipitation oder Agglutination nachweisen. Diese serologischen Reaktionen werden durch den Gehalt an Galaktose und Hexosamin bestimmt. Bis heute unterscheidet man mit Sicherheit vier verschiedene Typen. Sie werden mit Ia, Ib, II und III bezeichnet. Die typenspezifischen Polysaccharid-Antigene sind Virulenzfaktoren der B-Streptokokken (13). Im Tierexperiment konnte denn auch die Bildung von typenspezifischen Schutzantikörpern gezeigt werden (16).

2. Protein-Typen

Auch die typenspezifischen Protein-Antigene sind in der Zellwand lokalisiert (5). Bisher wurde ein R- und ein X-Antigen nachgewiesen, nach denen die Typen R und X benannt werden. Mittels der Immunelektrophorese lassen sich die beiden Antigene trennen. Bei vielen Stämmen kommen sie nebeneinander vor. Häufig treten sie zusammen mit einem Polysaccharid-Antigen auf, was an Kreuzreaktionen von Polysaccharid-Stämmen mit R- oder X-Serum erkennbar ist (5,13,14). Bis heute sind keine Beziehungen zwischen R- bzw. X-Antigenen und der Virulenz beobachtet worden (22).

Neben den erwähnten Typen gibt es noch eine grosse Zahl von Stämmen, die mit den bisher bekannten Methoden nicht typisierbar sind.

3. Häufigkeit der Typen

Die Häufigkeit der sechs Typen ist unterschiedlich. Bei den bovinen Stämmen von *Sc. agalactiae* dominieren die Protein-Typen R und X (14). Bezüglich des Vorkommens der Polysaccharid-Typen wurden beträchtliche regionale Unterschiede festgestellt. Innerhalb einer Herde herrschte meist ein einzelner Typ vor, während die anderen nur in geringer Zahl auftraten (18). Bei der einzelnen Kuh wurde in der Regel in allen infizierten Vierteln derselbe Serotyp nachgewiesen (3).

C. Das Immunsystem der Rindermilchdrüse und seine Rolle bei der Infektionsabwehr

Beim Rind wurden bisher die drei Immunglobulin-Klassen Ig G, Ig A und Ig M nachgewiesen. Die Ig G-Klasse kann in Ig G1 und Ig G2 unterteilt werden.

Die Immunglobuline im Milchdrüsensekret stammen aus dem Blut oder werden lokal im Euter gebildet.

Das wichtigste Immunglobulin im Kolostrum und in der Milch ist das Ig G1. Es gelangt durch einen selektiven Transport aus dem Blut in das Milchdrüsensekret. Akute Entzündungen unterdrücken diesen aktiven Transport, führen jedoch zu einem vermehrten passiven Uebertritt von anderen Serumproteinen wie Albumin und Ig G2. (8,9,10,17)

Das Einbringen eines Antigens ins Euter induziert eine lokale Produktion von Antikörpern. Die meisten davon gehören zu den Ig A und den Ig M. Sie werden durch Plasmazellen gebildet, welche sich aus B-Lymphozyten differenziert haben. Die antikörperbildenden Zellen konnten in der Nähe der Drüsenepithelien lokalisiert werden. (6,15)

Neben diesen spezifischen Abwehrfaktoren verfügt der Organismus zusätzlich über mechanische, humorale und zelluläre Mechanismen, um sich vor Infektionserregern zu schützen (4). In verschiedenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass vor allem der Phagozytose von eindringenden Bakterien bei der Abwehr von Euterinfektionen grosse Bedeutung zukommt (20). Mehrere Arbeitsgruppen gehen zurzeit der Frage nach, von welchen Faktoren die Phagozytose-Fähigkeit der Granulozyten in der Milch beeinflusst wird, und welche Möglichkeiten bestehen, diese Befähigung zu steigern. Das Vermögen der Granulozyten zur Aufnahme und Abtötung von Erregern kann durch Antikörper gesteigert werden, insbesondere durch zytophile Antikörper der Ig G2-Klasse sowie durch solche, die gegen Oberflächenantigene gerichtet sind (21). Es sind auch Anzeichen dafür vorhanden, dass gegen Zellwandantigene gerichtete Antikörper der Ig A- und Ig M-Klasse das Haften von Bakterien am Epithel zu hemmen vermögen und damit das Angehen von Infektionen in der Milchdrüse vermindern (7). Aus diesen Gründen konzentriert sich das Interesse vorwiegend auf den Gehalt der Milch an Agglutininen, Opsoninen und Komplement (17).

D. Agglutinine

Korpuskuläre Elemente, z. B. Bakterien, können durch Bindung von Antikörpern makroskopisch sichtbar miteinander verklumpen. Diesen Vorgang bezeichnet man als Agglutination; die zugehörigen Antikörper werden Agglutinine genannt. Die Antigene, sogenannte Agglutinogene, liegen auf der Oberfläche der Bakterienzelle. Durch eine Verklumpung können die Bakterien an der Ausbreitung und Haftung gehindert werden. Die Agglutinine besitzen protektiven

Charakter, sofern die homologen Antigene Virulenzfaktoren sind. Da bei den typenspezifischen Polysaccharid-Antigenen der B-Streptokokken eine Beziehung zur Virulenz bekannt ist, hätten Agglutinine, die gegen diese Antigene gerichtet sind, auch protektiven Charakter.

Ueber Bestimmungen von Agglutininen gegen typenspezifische Antigene von Gelbgalt-Streptokokken liegen in der Literatur keine Angaben vor. Einige Untersucher haben jedoch bei der Auswahl von Versuchstieren für eine anschliessende Vakzination festgestellt, dass bei einem Teil der Tiere auch ohne Infektion und ohne Exposition im Blut- und Milchserum Agglutinine in messbaren Mengen vorhanden waren (2). In einer weiteren Arbeit wurden Titerbestimmungen von Agglutininen gegen *Sc. agalactiae* durchgeführt (1). Es wurde jedoch in beiden Arbeiten nicht untersucht, ob diese Agglutinine gegen die typenspezifischen Antigene gerichtet waren.

III EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. Material

Die für die Untersuchung benötigten Blut- und Milchproben stammten von laktierenden Kühen aus dem Einzugsgebiet der Ambulatorischen Klinik des Tierspitals Zürich. Aufgrund der bakteriologischen Untersuchung von Viertelsgemelksproben wurden die Tiere in drei Gruppen eingeteilt:

Gruppe 1: Eutergesunde Tiere

Zu dieser Gruppe gehören 38 Tiere. Sie sind nachweislich frei von Infektionen mit *Sc. agalactiae* und stehen in einem Bestand, in dem bei regelmässigen Untersuchungen aller Tiere in den letzten Jahren nie Gelbgalt-Infektionen festgestellt wurden.

Gruppe 2: Exponierte Tiere

Diese Gruppe umfasst 75 Kühe. Zum Zeitpunkt der Untersuchung wiesen sie keine Infektionen mit *Sc. agalactiae* auf; sie stammen jedoch aus Beständen, in denen mehrere andere Tiere mit subklinischen Gelbgalt-Mastitiden stehen.

Gruppe 3: Infizierte Tiere

Es handelt sich dabei um 80 Kühe, bei denen zum Zeitpunkt der Untersuchung an einem oder mehreren Vierteln eine Infektion mit *Sc. agalactiae* nachgewiesen wurde.

Von allen Tieren dieser drei Gruppen wurde Blut untersucht.

Zusätzlich wurden Viertelsgemelksproben von 26 Kühen, die an mindestens einem Viertel eine Gelbgalt-Infektion aufwiesen, in die Untersuchung einbezogen. In 40 dieser 104 Proben konnten B-Streptokokken nachgewiesen werden.

Aus dem Blut und aus der Milch wurde Serum hergestellt und bis zur weiteren Verarbeitung tiefgefroren.

B. Methodik

Alle Blut- und Milchseren wurden nach Herstellung einer Verdünnungsreihe auf agglutinierende Antikörper gegen die sechs Typen Ia, Ib, II, III, R und X von *Sc. agalactiae* untersucht.

1. Herstellung von Milchserum

- Entfernen des Fettes durch Zentrifugation (10 min; 1200 g)
- Zugabe von 0,5 ml einer 10 %igen Lablösung zu 20 ml Magermilch
- Ausfällen des Kaseins im Wasserbad (38° C)
- Entfernen des Kaseins durch Filtration und Zentrifugation

2. Herstellung der Antigen-Suspensionen

- Anzüchten der sechs Typen von *Sc. agalactiae* in Trypticase Soy Broth bei 37° C während 48 h
- Zentrifugation der Bakterien-Suspensionen (10 min; 1200 g)
- Zweimalige Waschung der Sedimente mit 0,9 %iger NaCl-Lösung
- Aufschwemmung in etwa 12 ml steriler physiologischer NaCl-Lösung und anschließende Homogenisierung

- Verdünnung der gewonnenen Suspensionen, bis ihre Dichte von Auge mit derjenigen eines Brown'schen Röhrchens Nr. 3 übereinstimmt (Brown'sches Röhrchen Nr. 3: Ausfällung von BaSO_4 , hergestellt aus 9,7 ml H_2SO_4 1 % und 0,3 ml BaCl_2 1 %)
- Inaktivierung der Streptokokken im Wasserbad (60°C ; 60 min)
- Aufbewahrung der Antigen-Suspensionen bei $+4^\circ \text{C}$

3. Durchführung der Agglutination

a) Blutserum

- Herstellung einer Verdünnungsreihe mit 0,9 %iger NaCl-Lösung. Ausgangsverdünnung 1:10; weitere Verdünnungsstufen 1:2; Volumen 1 ml
- Zugabe von 1 ml Antigen-Suspension in jedes Röhrchen
- Gute Durchmischung des Inhaltes
- Inkubation im Wasserbad (50°C ; 18 h)

b) Milchserum

- Herstellung einer Verdünnungsreihe mit 0,9 %iger NaCl-Lösung. Ausgangsverdünnung 1:2; weitere Verdünnungsstufen ebenfalls 1:2; Volumen 0,5 ml
- Zugabe von 0,5 ml Antigen-Suspension in jedes Röhrchen
- Gute Durchmischung des Inhaltes
- Inkubation im Wasserbad (50°C ; 18 h)

Bei der Untersuchung sowohl des Blut- wie auch des Milchserums wurden Negativkontrollen angesetzt, die zu gleichen Teilen 0,9 %ige NaCl-Lösung und Antigen-Suspension enthielten.

c) Beurteilung

Die serologischen Reaktionen wurden folgendermassen beurteilt:

Positiv: Auf dem Röhrchenboden liegt ein Flockensediment (Agglutinat). Bei stark positiven Reaktionen ist zusätzlich ein Randfaden vorhanden. Der Ueberstand ist vollständig aufgehellt.

Negativ: Ein Knopf von sedimentierten Einzelbakterien ist am Röhrchenboden sichtbar. Der Ueberstand ist milchig trüb geblieben.

C. Resultate

1. Blutserum

a) Eutergesunde Tiere

Gegenüber den Typen Ia, Ib und III wurden bei keinem Tier Agglutinine nachgewiesen (Tab.1). In 3 Fällen reagierten die Seren gegenüber Typ II in der Ausgangsverdünnung positiv.

Gegenüber den Typen R und X war bei 97 % der Kühe eine positive Reaktion feststellbar. Die Titer reichten mit einer Ausnahme von 10 bis 40, wobei der häufigste Wert gegen Typ R bei 20 und gegen Typ X bei 40 lag. In 34 % der Fälle waren die Titer gegen die beiden Protein-Typen identisch; in 61 % war der Titer gegen Typ X höher und in 5 % tiefer als derjenige gegen Typ R. Die Differenz betrug meist eine Verdünnungsstufe.

Tabelle 1: Titer im Blutserum von 38 eutergesunden Kühen gegenüber 6 Typen von *Sc. agalactiae*

Typ	Anzahl Kühe mit einem Titer von				
	<10	10	20	40	80
Ia	38				
Ib	38				
II	35	3			
III	38				
R	1	7	25	5	
X	1	3	12	21	1

b) Exponierte Tiere

Auch in der Gruppe der eutergesunden Tiere aus gelbgalt-positiven Beständen konnten keine Agglutinine gegen die Typen Ia und Ib festgestellt werden (Tab. 2). 2 Kühe wiesen niedrige Titer gegen Typ III auf. Gegen Typ II reagierten 21 % der Seren positiv.

Gegenüber den Typen R und X waren bei 97 % bzw. 91 % aller Tiere Antikörper nachweisbar. Mit zwei Ausnahmen lagen die Titer zwischen 10 und 160. 1 Kuh wies Werte von 640 gegen Typ R und 1280 gegen Typ X auf. Am häufigsten waren Agglutinine in den Verdünnungen 1:20 und 1:40 vorhanden. Die Verteilung der verschiedenen Titer fiel bei beiden Typen annähernd gleich aus. Dabei waren in 56 % der Fälle die Werte gegen die zwei Protein-Antigene identisch; in 27 % war der Titer gegen Typ X höher und in 17 % tiefer als derjenige gegen Typ R. Die Differenz betrug eine, selten zwei Verdünnungsstufen.

Tabelle 2: Titer im Blutserum von 75 exponierten Kühen gegenüber 6 Typen von *Sc. agalactiae*

Typ	Anzahl Kühe mit einem Titer von								
	<10	10	20	40	80	160	320	640	1280
Ia	75								
Ib	75								
II	59	11	5						
III	73	1	1						
R	2	15	29	22	5	1		1	
X	7	12	21	21	12	1			1

c) Infizierte Tiere

Bei keiner der Kühe, die an einer Gelbgalt-Mastitis litten, konnten Antikörper gegen die Polysaccharid-Typen Ia und III erfasst werden (Tab. 3). In 1 Fall wurde ein Titer von 20 gegen Typ Ib festgestellt. Gegen Typ II wurden häufiger als bei den nicht infizierten Tieren Agglutinine nachgewiesen: 30 % der Seren reagierten positiv, wobei Werte bis 80 auftraten.

Agglutinierende Antikörper gegen die Typen R und X waren bei 99 % bzw. 94 % der Tiere vorhanden. Die Titer reichten von 10 bis 320 mit einer Häufung bei 40 und 80. Die Verteilung der verschiedenen Titer war auch hier bei beiden Typen annähernd gleich, wobei in 68 % der Fälle identische Werte gegen die zwei Protein-Antigene festgestellt wurden. In 15 % war der Titer gegen Typ X höher und in 17 % tiefer als derjenige gegen Typ R. Mit einer Ausnahme betrug die Differenz eine Verdünnungsstufe.

Tabelle 3: Titer im Blutserum von 80 infizierten Kühen gegenüber 6 Typen von *Sc. agalactiae*

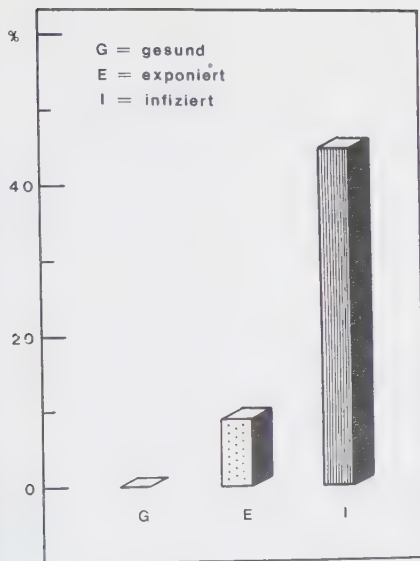
Typ	Anzahl Kühe mit einem Titer von						
	<10	10	20	40	80	160	320
Ia	80						
Ib	79		1				
II	56	17	5	1	1		
III	80						
R	1	8	9	26	24	9	3
X	5	7	8	17	32	9	2

d) Vergleich der Titer gegen die verschiedenen Typen
im einzelnen Serum

Die höchsten Titer in den einzelnen Blutseren wurden gegen die Typen R und X festgestellt. Dies gilt sowohl für die eutergesunden, wie auch für die exponierten und infizierten Tiere. Ausnahmen kamen bei Typ II vor: In 4 Seren wurden Agglutinine gegen diesen Typ in derselben Endverdünnung nachgewiesen wie gegen die Typen R und X.

e) Vergleich der drei Gruppen bezüglich der Typen
R, X und II

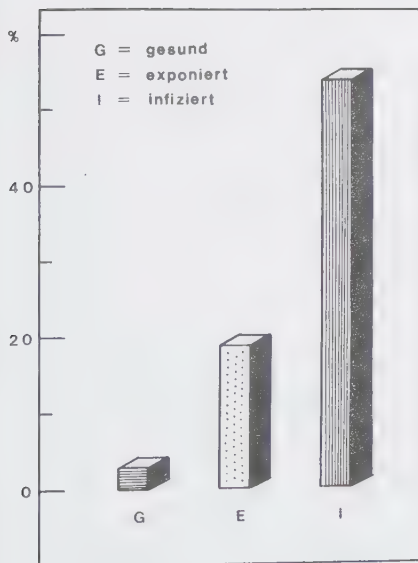
Um festzustellen, ob durch eine Infektion mit Gelbgalt-Streptokokken spezifische Titerveränderungen hervorgerufen werden, schien es zweckmässig, die Häufigkeitsverteilungen der Titer in den Seren von eutergesunden, exponierten und infizierten Kühen miteinander zu vergleichen. Die vergleichenden Darstellungen der Häufigkeiten von Titern über 40 bei den drei Gruppen lassen erkennen, dass in den Seren von infizierten Tieren häufiger hohe Antikörper-Titer vorlagen als in Blutseren von Tieren ohne Infektion (Abb. 1 und 2). Dies trifft sowohl für Typ R wie auch für Typ X zu. Nimmt man als Beispiel einen Grenzwert von 1:40, so wiesen 45 % der Seren von infizierten Kühen einen Titer von 80 und höher auf (Typ R). Bei exponierten Tieren betrug der entsprechende Anteil 9 %, während bei den eutergesunden nie Titer über 40 festgestellt werden konnten. Bei letzteren reichten die Titer gegen die zwei Protein-Typen mit einer Ausnahme nur bis 40, bei den beiden anderen Gruppen hingegen bis 320 und höher.



Anteil Kühe mit Titern ≥ 80

Abbildung 1:

Häufigkeiten von Titern von ≥ 80 gegen Typ R bei eutergesunden, exponierten und infizierten Kühen



Anteil Kühe mit Titern ≥ 80

Abbildung 2:

Häufigkeiten von Titern von ≥ 80 gegen Typ X bei eutergesunden, exponierten und infizierten Kühen

Auch bei Typ II sind Unterschiede zwischen den drei Gruppen erkennbar (Abb. 3). Während bei den eutergesunden Tieren 8 % der Seren positive Titer aufwiesen, die nur bei 10 lagen, waren es bei den infizierten 30 %. Die gemessenen Titer reichten hier in einem Fall bis 80.

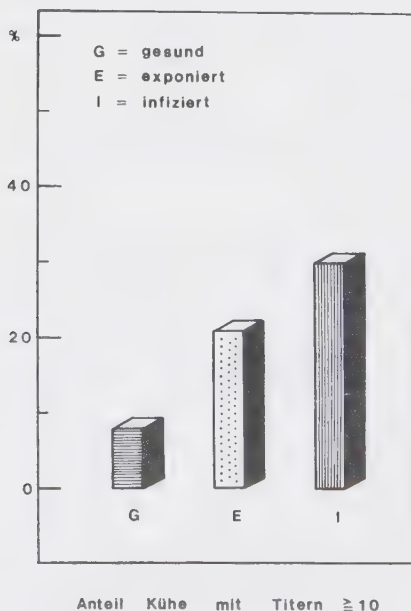


Abbildung 3:

Häufigkeiten von Titern von ≥ 10 gegen Typ II bei eutergesunden, exponierten und infizierten Kühen

Da bei den eutergesunden Tieren nur in der Verdünnung von 1:10 Agglutinine nachgewiesen wurden, schien es zweckmässig, den Grenztiter bei Typ II bei 10 festzulegen.

2. Milchserum

Von 26 infizierten Kühen wurden 104 Viertelsgemelksproben untersucht. Aus 40 Proben konnte *Sc. agalactiae* isoliert werden, in den anderen 64 wurden keine Gelbgalt-Erreger nachgewiesen.

a) Nicht infizierte Viertel

Keines der Milchseren wies agglutinierende Antikörper gegen Typ Ia auf (Tab. 4). In 13 % bzw. 17 % der Proben waren Agglutinine gegen Typ Ib bzw. III vorhanden. Gegen Typ II wurden in zwei Drittel der untersuchten Seren positive Titer, die bis 32 reichten, festgestellt.

Gegenüber den Typen R und X waren in 98 % der Seren Antikörper nachweisbar. Die Titer lagen im Bereich von 2 - 64 mit einer Häufung bei 4 - 16. Die Verteilung der verschiedenen Titerstufen fiel bei beiden Typen annähernd gleich aus, wobei in 70 % der Fälle die Werte identisch waren. In 17 % war der Titer gegen Typ X höher und in 13 % tiefer als derjenige gegen Typ R. Die Differenz betrug meist eine Verdünnungsstufe.

Tabelle 4: Titer in 64 Milchseren aus nicht infizierten Vierteln gegenüber 6 Typen von *Sc. agalactiae*

Typ	Anzahl Milchseren mit einem Titer von						
	< 2	2	4	8	16	32	64
Ia	64						
Ib	56	1	2	4	1		
II	21	5	13	8	15	2	
III	53		4	6	1		
R	1	4	12	25	15	5	2
X	1	3	15	20	16	7	2

b) Infizierte Viertel

Auch in den Seren aus infizierten Vierteln wurden nie Agglutinine gegen Typ Ia festgestellt (Tab. 5). Gegen die Typen Ib und III wiesen 22 % bzw. 30 % der Proben positive Titer auf. In vier Fünftel aller Milchseren waren Antikörper gegen Typ II bis zu Verdünnungen von 1:32 nachweisbar.

In einem einzigen Milchserum waren keine Antikörper gegen Typ R in messbarer Menge vorhanden. Alle anderen Seren wiesen positive Reaktionen gegenüber den beiden Typen R und X auf. Agglutinine waren in Verdünnungen von 1:4 bis 1:128 feststellbar, und zwar am häufigsten im Bereich von 1:8 bis 1:32. Auch hier war die Verteilung der einzelnen Titerstufen bei beiden Typen annähernd gleich. Dabei wurde in 63 % der Fälle ein identischer Wert gegenüber den zwei Protein-Antigenen festgestellt; in 30 % war der Titer gegen Typ X höher und in 7 % tiefer als derjenige gegen Typ R. Die Differenz betrug meist eine Verdünnungsstufe.

Tabelle 5: Titer in 40 Milchseren aus infizierten Vierteln gegenüber 6 Typen von *Sc. agalactiae*

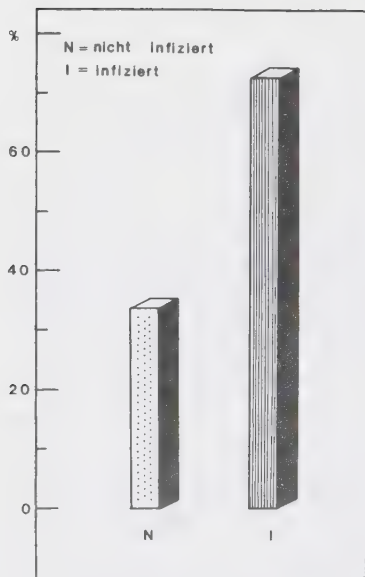
Typ	Anzahl Milchseren mit einem Titer von							
	< 2	2	4	8	16	32	64	128
Ia	40							
Ib	31	2		6	1			
II	7	3	8	4	12	6		
III	28	2	2	3	4	1		
R	1		3	7	14	7	6	2
X			3	6	12	11	5	3

c) Vergleich der Titer gegen die verschiedenen Typen im einzelnen Serum

Die höchsten Titer in den einzelnen Milchseren wurden gegen die Typen R und X gemessen. Dies trifft für Proben aus infizierten wie auch aus nicht infizierten Vierteln zu. Ausnahmen kamen bei Typ II vor: In zwei Seren wurden Agglutinine gegen diesen Typ in einer höheren Verdünnungsstufe als gegen die Typen R und X festgestellt.

d) Vergleich von nicht infizierten und infizierten Vierteln

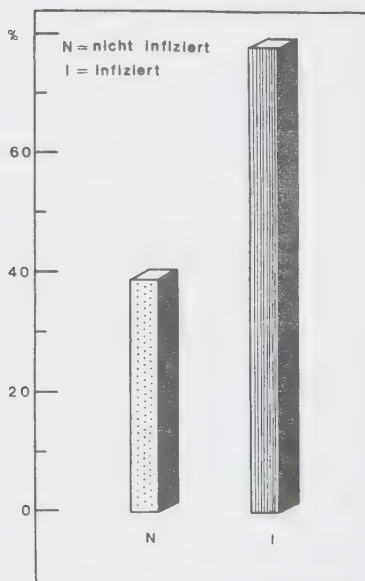
Die Häufigkeiten der verschiedenen Titer in den Seren aus infizierten und nicht infizierten Vierteln wurden einander gegenübergestellt, um abzuklären, ob eine Infektion mit Gelbgalt-Streptokokken spezifische Titerveränderungen bewirken kann. In den vergleichenden Darstellungen der Häufigkeiten von Titern über 8 ist erkennbar, dass in Seren aus infizierten Vierteln häufiger Agglutinine in hohen Verdünnungsstufen nachgewiesen wurden als in Seren aus nicht infizierten Vierteln (Abb. 4 und 5). Dies trifft sowohl für Typ R wie auch für Typ X zu. Folgende Zahlen illustrieren diese Beobachtung: Titer von 16 und höher wurden in 73 % der Seren aus infizierten Vierteln gemessen, jedoch nur in 34 % aller Seren aus nicht infizierten Vierteln (Typ R).



Anteil Seren mit Titern ≥ 16

Abbildung 4:

Häufigkeiten von Titern von ≥ 16
gegen Typ R in Seren aus nicht
infizierten und infizierten
Vierteln

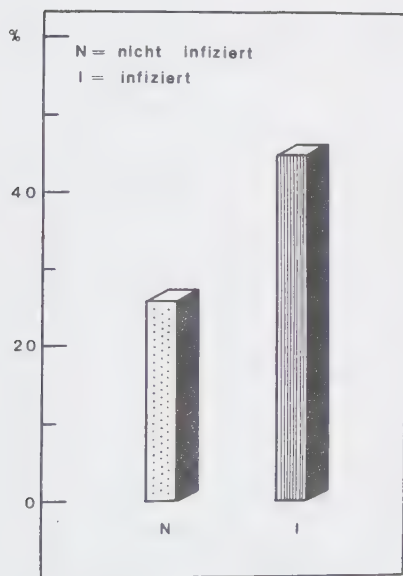


Anteil Seren mit Titern ≥ 16

Abbildung 5:

Häufigkeiten von Titern von ≥ 16
gegen Typ X in Seren aus nicht
infizierten und infizierten
Vierteln

Auch bei Typ II ist ein Einfluss der Gelbgalt-Infektion auf die Titerhöhe erkennbar (Abb. 6). In 33 % der Seren aus nicht infizierten Vierteln wurden keine Agglutinine nachgewiesen, hingegen nur in 18 % aus infizierten Vierteln. Werte von 16 und höher wurden hingegen in 45 % der Proben aus infizierten Vierteln, jedoch nur in 26 % aus nicht infizierten festgestellt.



Anteil Seren mit Titern ≥ 16

Abbildung 6:

Häufigkeiten von Titern von ≥ 16 gegen Typ II in Seren aus nicht infizierten und infizierten Vierteln

Analoge Ergebnisse wurden auch für die Typen Ib und III erhalten. Seren aus infizierten Vierteln enthielten häufiger Agglutinine in messbaren Mengen als solche aus nicht infizierten (Tab. 4 und 5).

e) Einfluss einer Euterentzündung auf die Titerhöhe

Da durch eine Entzündung der Milchdrüse die Schranke zwischen Blut und Euter durchlässiger wird und auch höhermolekulare Substanzen wie Immunglobuline vom Blut in die Milch übertreten können, interessierte es, ob Beziehungen zwischen der Titerhöhe im Milchserum und dem Vorliegen einer Euterentzündung bestehen. Als Mass für die Schädigung des Euterparenchyms wurde der Schalmtest (CMT) genommen, mit dem indirekt die Anzahl der Entzündungszellen geschätzt wird.

Zur Abklärung des vermuteten Zusammenhanges wurden die Titer im Milchserum getrennt nach CMT-negativen und CMT-positiven Milchproben aufgeführt. In Tabelle 6 sind die Serumwerte aus nicht infizierten Vierteln und in Tabelle 7 diejenigen aus infizierten Vierteln enthalten. Es wurden nur die Typen Ib, II, III, R und X berücksichtigt, da gegen Typ Ia nie Agglutinine festgestellt wurden.

Tabelle 6: Titer in 46 CMT-negativen (-) und 10 CMT-positiven (+) Milchproben aus nicht infizierten Vierteln gegenüber 5 Typen von *Sc. agalactiae*

Typ	CMT		Anzahl Seren mit einem Titer von						
	+/-	n	<2	2	4	8	16	32	64
R	-	46	1	3	10	21	10	1	
	+	10				3	4	1	2
X	-	46	1	2	12	17	11	2	1
	+	10			1	2	5	1	1
Ib	-	46	40	1	1	3	1		
	+	10	8		1	1			
II	-	46	17	4	11	7	7		
	+	10	2		1	1	4	2	
III	-	46	39		1	5	1		
	+	10	6		3	1			

Tabelle 7: Titer in 14 CMT-negativen (-) und 24 CMT-positiven (+) Milchproben aus infizierten Vierteln gegenüber 5 Typen von *Sc. agalactiae*

Typ	CMT		Anzahl Seren mit einem Titer von							
	+/-	n	<2	2	4	8	16	32	64	128
R	-	14	1		3	3	4	2	1	
	+	24				3	10	4	5	2
X	-	14			3	4	3	2	2	
	+	24				1	9	8	3	3
Ib	-	14	12			1	1			
	+	24	17	2		5				
II	-	14	3	2	4	1	4			
	+	24	4	1	3	3	8	5		
III	-	14	12	1			1			
	+	24	14	1	2	3	3	1		

Milchseren aus entzündeten Vierteln ohne Infektion wiesen häufiger hohe Titer auf als solche aus nicht entzündeten (Tab. 6). Diese Feststellung trifft für die Typen R, X und II zu. Ein Beispiel soll sie belegen: Gegen Typ R waren in 7 von 10 CMT-positiven Milchproben Titer von 16 und höher vorhanden, hingegen nur in 11 von 46 CMT-negativen.

Analoge Ergebnisse wurden auch in den Seren aus gelbgalt-infizierten Vierteln erhalten (Tab. 7). Zur Veranschaulichung dienen folgende Zahlen: In 23 von 24 CMT-positiven Milchproben waren Titer von 16 und höher nachweisbar, jedoch nur in 7 von 14 CMT-negativen (Typ X).

Betreffend der Typen Ib und III konnte kein Hinweis für einen Einfluss einer Entzündung auf die Titerhöhe festgestellt werden, da nur wenige Seren überhaupt positiv reagierten.

f) Vergleich der Titerhöhe in Milch- und Blutserum

Da die Milchdrüse in der Lage ist, spezifische Antikörper zu bilden, sollte auch überprüft werden, ob bei Kühen mit infizierten Vierteln unter Umständen im Milchserum höhere Agglutinationstiter nachweisbar sind als im Blutserum und ob Beziehungen zur CMT-Reaktion bestehen.

Während bei den Typen R und X nur in 2 bzw. 4 von 94 Fällen das Milchserum einen höheren Agglutinationstiter als das Blutserum aufwies, trat dieser Unterschied in 28 von 94 Fällen bezüglich des Typs II auf (Tab. 8). Besonders häufig manifestierte er sich hier bei Milchen, die eine positive CMT-Reaktion aufwiesen.

Tabelle 8: Vergleich der Serومتiter in Blut und Milch bei infizierten Tieren in Abhängigkeit der CMT-Reaktion bei den Typen R, X und II (Zahlen: Anzahl Milchseren)

Typ	Verhältnis M : B *	CMT-negativ 60	CMT-positiv 34	Total 94
R	M > B	0	2	2
	M < B	60	32	92
X	M > B	2	2	4
	M < B	58	32	90
II	M > B	10	18	28
	M < B	16	5	21
	**	34	11	45

- * M > B: Titer im Milchserum ist höher als im Blutserum
M < B: Titer im Milchserum ist niedriger als im Blutserum

- ** Diese Zeile enthält der Vollständigkeit halber diejenigen

Milchseren, die in Verdünnungen bis höchstens 1:8 Agglutinine enthielten, während die zugehörigen Blutseren in der Verdünnungsstufe von 1:10 ohne feststellbare Antikörper waren. Diese Seren konnten nicht in den Vergleich miteinbezogen werden, da die Blutseren in den Verdünnungen von 1:2, 1:4 und 1:8 nicht untersucht wurden.

Auffällig grosse Unterschiede zwischen Milch- und Bluttitern wurden nur gegenüber Typ II festgestellt. Es traten Titer von 16 oder sogar 32 auf, ohne dass im Blut Agglutinine nachgewiesen wurden.

Für die Typen Ia, Ib und III lagen gar keine oder zu wenig positive Titer vor. Sie wurden deshalb nicht in den Vergleich aufgenommen.

IV DISKUSSION

A. Agglutinine im Blutserum

Es bestanden Unterschiede sowohl in der Häufigkeit, mit der Agglutinine gegen die sechs Typen von *Sc. agalactiae* festgestellt werden konnten, wie auch in der Menge der nachgewiesenen Antikörper. Erstaunlicherweise waren Agglutinine gegen die beiden Protein-Typen R und X bei fast allen Kühen vorhanden, unabhängig davon, ob sie gesunde oder infizierte Euter hatten. Diese Feststellung legt die Vermutung nahe, dass die erfassten Antikörper nicht ausschliesslich auf eine Stimulation mit dem homologen Antigen hin gebildet wurden. Dies erscheint vor allem bei denjenigen Tieren wahrscheinlich, die praktisch nie Gelegenheit hatten, sich mit Gelbgalt-Erregern zu infizieren (regelmässige Bestandeskontrollen). Eine Erklärung für das Vorliegen von Antikörpern bei fast allen Tieren könnte in der Annahme bestehen, dass bis zu einer bestimmten Titerhöhe unspezifische Reaktionen vorlagen. Wenn wir willkürlich einen Grenztiter bei 40 festlegen, weist mit einer Ausnahme keines der eutergesunden Tiere "spezifische" Titer auf, wogegen 19 % der exponierten und 54 % der infizierten Kühe als Reagenten zu bezeichnen wären (Typ X). Bei Typ R sind die Resultate analog. Ein Kontakt mit *Sc. agalactiae* hat offenbar dazu geführt, dass zusätzlich Agglutinine gegen das R- und das X Antigen gebildet wurden.

Fast alle untersuchten Seren wiesen gleichzeitig Antikörper gegen Typ R und Typ X auf, wobei die Titerhöhen in der Regel identisch waren. Als mögliche Erklärung dafür ist aus der Literatur zu entnehmen, dass viele Stämme der B-Streptokokken das R- und das X-Antigen gemeinsam enthalten. Auch ist bekannt,

dass nur geringe immunologische Unterschiede zwischen den beiden Antigenen bestehen. Sie scheinen enge Beziehungen untereinander zu haben, was zu sehr häufig beobachteten Kreuzreaktionen führt (5, 14).

Gegen die Polysaccharid-Typen Ia, Ib und III waren die Titer mit wenigen Ausnahmen immer negativ. Diese Beobachtung lässt sich auf zwei verschiedene Arten interpretieren. Zum einen könnte es sein, dass diese Typen bei uns nicht oder nur selten vorkommen, zum anderen besteht aber auch die Möglichkeit, dass diese Antigene nicht die Produktion von agglutinierenden Antikörpern induzieren. Die wenigen positiven Titer weisen jedoch eher darauf hin, dass die erste Erklärung zutrifft.

Gegenüber dem Polysaccharid-Typ II konnten mit zunehmendem Expositionsgrad häufiger positive Titer festgestellt werden. Dieser Typ konnte bei unseren Patienten auch verschiedentlich nachgewiesen werden. Die Titer gegen diesen Typ sind allerdings deutlich niedriger als gegen die Protein-Typen. Die Hinweise aus der Literatur, wonach das Vermögen zur Anregung der Agglutininbildung bei den Polysaccharid-Antigenen nicht sehr ausgeprägt ist, dürfte eine Erklärung für die niedrigen Titer sein (16). Da gegen die Polysaccharid-Antigene jedoch protektive Antikörper gebildet werden, sind diese von grösserem Interesse als die Antikörper gegen die Protein-Antigene (22).

B. Agglutinine im Milchserum

Die Titer in den Milchseren waren in der Regel deutlich niedriger als diejenigen im Blutserum. Dieses Phänomen ist für alle Typen zutreffend. Es dürfte darauf zurückzuführen sein, dass die nachgewiesenen Antikörper wahrscheinlich aus dem Blutserum stammen

und erst sekundär in die Milch gelangen, wie dies in anderen Arbeiten bewiesen werden konnte (8).

Gegenüber den Protein-Antigenen R und X wurden in fast allen Milchproben positive Titer festgestellt. Dies war nach den Resultaten der Blutserumuntersuchungen auch zu erwarten.

Beim Vergleich der Milchserumtiter aus nicht infizierten und infizierten Vierteln wurden deutliche Unterschiede gefunden. Das häufigere Auftreten von hohen Titern in Proben aus gelbgalt-infizierten Vierteln kann einesteils die Folge einer Stimulation der Antikörper bildenden Zellen im Euter durch die Gelbgalt-Streptokokken sein. Es ist auch möglich, dass eine durch die Infektion ausgelöste Entzündung für einen vermehrten Uebertritt von Immunglobulinen aus dem Blut in die Milch verantwortlich ist. Diese Vermutung wird durch die Beobachtung gestützt, dass in zellreichen Milchproben häufiger hohe Titer auftraten als in zellarmen. Es ist bekannt, dass als Folge einer Irritation des Drüsengewebes Immunglobuline in grösserer Menge passiv in die Milch gelangen. Dieser Vorgang scheint die Störung der aktiven Sekretion, wie sie bei Euterentzündungen festgestellt wurde, mehr als kompensieren zu können (10, 19).

Die Milchserum-Antikörper gegenüber den Polysaccharid-Typen stehen nur teilweise in direkter Beziehung zu den Ergebnissen der Blutserumuntersuchungen. Analoge Resultate wurden insofern erhalten, als gegen Typ Ia nie Agglutinine festgestellt wurden. Auch das häufige Vorkommen von Antikörpern gegen Typ II war nach den Befunden im Blutserum zu erwarten. Ein Einfluss einer Gelbgalt-Infektion auf die Titerhöhe wurde auch bei diesem Typ beobachtet. Entsprechend den Resultaten bei den Typen R und X wurden in Seren aus infizierten Vierteln häufiger Agglutinine in hohen Verdünnungen nachgewiesen als in solchen aus nicht infizierten. Die möglichen Erklärungen dafür dürften dieselben sein wie für die Befunde bei den beiden Protein-Typen.

Etwas überrascht hat die Feststellung, dass gegen die Typen Ib bzw. III in 17 bzw. 23 von 104 Milchproben Agglutinine nachgewiesen werden konnten. Dieses Ergebnis korrigiert die in der Diskussion der Resultate aus den Blutserumuntersuchungen geäusserte Vermutung dahin, dass diese beiden Typen bei uns ebenfalls als Mastitiserreger vorkommen. Das Fehlen von Agglutininen im Blutserum kann dadurch erklärt werden, dass diese erst in Verdünnungen von 1:10 an aufwärts untersucht wurden im Unterschied zu den Milchseren, die schon von 1:2 an getestet wurden. Ueber das Vorkommen von Antikörpern im Blutserum kann deshalb in den niedrigen Verdünnungen von 1:2 bis 1:8 nichts ausgesagt werden.

Einige Milchseren wiesen höhere Titer als das zugehörige Blutserum auf. Besonders häufig wurde dies bezüglich des Typs II beobachtet, wobei auch die Titerunterschiede zum Teil deutlich ausfielen. Dieser Befund könnte durch eine Bildung von Antikörpern in der Milchdrüse erklärt werden. Eine lokale Antikörper-Produktion konnte denn auch in verschiedenen Untersuchungen bewiesen werden (9, 15, 17).

Es wird nun Aufgabe weiterer Untersuchungen sein, abzuklären, welche Bedeutung den Agglutininen bei der Auseinandersetzung mit Mastitiserregern zukommt. Da in der vorliegenden Arbeit nur untersucht wurde, ob überhaupt Antikörper gegen Oberflächenantigene der B-Streptokokken gebildet werden, sind im Moment nur Spekulationen über diese Frage möglich.

V ZUSAMMENFASSUNG

Von 193 Milchkühen wurde Blutserum und von 104 Viertelsgemelksproben Milchserum auf agglutinierende Antikörper gegen sechs Typen von *Sc. agalactiae* untersucht.

Die Blutseren stammten von 38 eutergesunden, 75 exponierten und 80 mit *Sc. agalactiae* infizierten Tieren. Aus 40 Milchproben konnte *Sc. agalactiae* isoliert werden, in den anderen 64 wurden keine Gelbgalt-Streptokokken nachgewiesen.

Im Blutserum von fast allen Kühen wurden Agglutinine gegen die beiden Protein-Typen R und X festgestellt. Die Anzahl der hohen Titer stieg mit zunehmendem Expositionsgrad an.

Gegen die Polysaccharid-Typen Ia, Ib und III waren die Titer mit wenigen Ausnahmen immer negativ. Gegen den Polysaccharid-Typ II wurden agglutinierende Antikörper nachgewiesen, und zwar mit steigendem Expositionsgrad häufiger. Die Titer lagen jedoch deutlich niedriger als gegen die Protein-Typen.

In beinahe allen Milchseren wurden positive Titer gegenüber den Protein-Typen R und X festgestellt. Sie lagen jedoch tiefer als diejenigen im Blutserum.

Gegen den Polysaccharid-Typ Ia konnten auch im Milchserum nie Agglutinine nachgewiesen werden. Hingegen wurden gegen die Typen Ib und III in verschiedenen Milchproben agglutinierende Antikörper erfasst. Gegen Typ II waren häufig positive Titer feststellbar.

In zellreichen Milchproben traten häufiger hohe Titer auf als in zellarmen.

VI LITERATURVERZEICHNIS

1. BOTES, H.J.W. (1970)
Local Immunotherapy of Mastitis
J. Afr. Vet. Med. Ass., Suppl. 1
2. BRACEWELL, C.D., PATTISON, I.H. (1958)
Experimental Streptococcal Mastitis
J. Comp. Path. 68, 121 - 131
3. BRGLEZ, I., BATIS, J., JURCA, J. (1977)
Die Serotypen des Sc. agalactiae beim Gelben Galt der Kühe
Arbeitstagung der Alpenländer für Mastitisbekämpfung
Ljubljana
4. DAVIS, B.D., DULBECCO, R., EISEN, H.N., GINSBERG, H.S.,
WOOD, W.B. (1970)
Microbiology
Harper and Row, New York
5. HAHN, G., HEESCHEN, W., TOLLE, A. (1970)
Streptococcus. Eine Studie zur Struktur, Biochemie,
Kultur und Klassifizierung
Verlag Th. Mann OHG, Hildesheim
6. HUEBLER, C., HEESCHEN, W., TOLLE, A., HAMANN, J. (1978)
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Bedeutung des
sekretorischen Immunglobulin A (SIg A) für die Infektions-
abwehr der bovinen Milchdrüse
1. Isolierung und Identifizierung von Immunglobulinen
Milchwissenschaft 33, 1 - 6
7. LASCELLES, A.K. (1979)
The Immune System of the Ruminant Mammary Gland and its
Role in the Control of Mastitis
J. Dairy Sci. 62, 154 - 160

LEBENS LAUF

Ich wurde am 3. August 1952 als Tochter von Hans Scheuermeier und seiner Frau Elisabeth, geborene Peter, in Zürich geboren.

Nach der Primarschule besuchte ich in Winterthur das Gymnasium, welches ich im Herbst 1971 mit der Maturität Typ B abschloss.

Von 1971 bis 1976 studierte ich in Zürich Veterinärmedizin.

Nach dem Staatsexamen übernahm ich Vertretungen in verschiedenen Landpraxen der Ostschweiz.

Herrn Prof. Dr. M. Berchtold danke ich für die Ueberlassung des Themas.

Ebenfalls herzlich danken möchte ich Herrn Dr. R. Müller für die Leitung der Arbeit und seine mir stets gewährte Unterstützung.

Ein besonderer Dank geht an Frau M. Thaller, die mir bei der Durchführung der Laborarbeiten tatkräftig geholfen hat.

Frau R. Preisig möchte ich herzlich danken für das Schreiben des Manuskriptes.

